

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-057086

(43)Date of publication of application : 03.03.1998

(51)Int.Cl. C12P 7/64
C11B 3/12
C11B 7/00
C11C 3/10
// (C12P 7/64
C12R 1:73)

(21)Application number : 08-218512

(71)Applicant : ASAHI CHEM IND CO LTD

(22)Date of filing : 20.08.1996

(72)Inventor : TAKAHASHI TOSHIO
IMAMURA SHIGEYUKI

(54) PRODUCTION OF HIGHLY CONCENTRATED DOCOSAHEXAENOIC ACID MONOGLYCERIDE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for efficiently producing a fatty oil containing docosahexaenoic acid (DHA) monoglyceride in a new high content.

SOLUTION: This method for producing highly concentrated docosahexaenoic acid monoglyceride comprises dispersing a DHA-containing fatty oil in the aqueous solution of a divalent cation and a water-soluble polymer, treating the dispersion with lipase, subjecting the treated dispersion to a molecular distillation, collecting a highly concentrated DHA monoglyceride fraction and a highly concentrated DHA di and fraction, and recycling a fraction containing low concentration DHA monoglyceride and free fatty acids to the lipase reaction. The obtained highly concentrated DHA monoglyceride fraction has a monoglyceride content of $\leq 90\%$ and a DHA purity of $\geq 60\%$, and is extremely useful as a health food, a nutrient-reinforced food, a medicine raw material, etc.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japanese Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-57086

(43)公開日 平成10年(1998) 3月3日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 P	7/64		C 1 2 P	7/64
C 1 1 B	3/12		C 1 1 B	3/12
	7/00			7/00
C 1 1 C	3/10		C 1 1 C	3/10
// (C 1 2 P	7/64			

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 11 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平8-218512	(71)出願人	000000033 旭化成工業株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号
(22)出願日	平成8年(1996) 8月20日	(72)発明者	高橋 敏雄 静岡県田方郡大仁町三福632番地の1 旭 化成工業株式会社内
		(72)発明者	今村 茂行 静岡県富士市鮫島2番地の1 旭化成工業 株式会社内

(54)【発明の名称】 高濃度ドコサヘキサエン酸モノグリセリドの製造方法

(57)【要約】

【課題】 ドコサヘキサエン酸 (DHA) モノグリセリドを、従来にない高い含有率で含有した油脂を効率良く製造する方法を提供する。

【解決手段】 2価陽イオンと水溶性高分子の水溶液にDHAを含有した油脂を分散させ、これにリパーゼを作動させた後、分子蒸留により高濃度DHAモノグリセリド画分と高濃度DHAジおよびトリグリセリド画分を採取し、低濃度DHAモノグリセリドと遊離脂肪酸を含む画分を再度リパーゼ反応にリサイクルすることによりDHA純度を上昇させる。

【効果】 得られた高濃度DHAモノグリセリド画分のモノグリセリド含有率は90%以上、DHA純度は60%以上であり、健康食品、栄養強化食品、および医薬品原料等としてきわめて有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 2価陽イオンと水溶性高分子化合物を溶解した水溶液にドコサヘキサエン酸を含有する油脂を分散させ、これにリパーゼを作用させた後、分子蒸留により高濃度ドコサヘキサエン酸ジおよびトリグリセリドを含有する画分1、高濃度ドコサヘキサエン酸モノグリセリドを含有する画分2、遊離脂肪酸と低濃度ドコサヘキサエン酸モノグリセリドを含有する画分3に分離し、画分2を目的画分として回収した後、画分3を再度前記リパーゼ反応にリサイクルすることを特徴とするドコサヘキサエン酸モノグリセリド高含有油脂の製造方法。

【請求項2】 目的画分として回収する画分2のグリセリド中のモノグリセリド含有率が90%以上であり、ドコサヘキサエン酸含有率が60%以上である請求項1に記載のドコサヘキサエン酸モノグリセリド高含有油脂の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ドコサヘキサエン酸を含有する油脂を原料としてリパーゼを作用させ、ドコサヘキサエン酸を原料油脂よりも高濃度に含有するドコサヘキサエン酸モノグリセリド含有油脂の製造方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】ドコサヘキサエン酸（以下、DHAと略称することがある）は、 ω -3系多価不飽和脂肪酸の一種で魚油等に多く含まれていることが知られている。DHAには血小板凝集抑制作用、血中中性脂肪低下作用、血中コレステロール低下作用、制癌作用、脳機能向上効果等の種々の生理活性機能があることが知られている。魚油中のDHAの形態は通常トリグリセリドであり、DHAの含有率は構成脂肪酸中多くても20~30%であり、DHA以外にパルミチン酸、ステアリン酸等の飽和脂肪酸やリノール酸に代表される ω -6系多価不飽和脂肪酸のような過剰摂取が問題になっている成分が大量に含まれているため、魚油そのものを健康食品や医薬品として使用することは不都合である。

【0003】一方、ドコサヘキサエン酸のエチルエステルの形態としては高純度の物が市販されているが、エチルエステルはグリセリドに比較してヒトの消化器官での吸収が劣ることが知られている（Larry D. et al., Biochemical and Biophysical Research Communications Vol. 152, NO1, Page 328-335 (1988)）。さらに、DHAトリグリセリドは消化器官内で膵臓リパーゼの作用により、モノグリセリドと遊離脂肪酸に加水分解されて吸収されることから（原健次著、生理活性脂質EPA・DHAの生化学と応用、Page 124, 幸書房（1996））、モノグリセリド態のDHAを直接摂取の方が消化吸收の面か

ら有利である。

【0004】本発明者らは以上の点に着目し、既に油脂の構成脂肪酸のうちDHAを60%以上含有し、グリセリド中モノおよびジグリセリドが80%以上である油脂を発明している（特開平8-60181号公報）。また、リパーゼを触媒として魚油のエタノリシスを行いDHA以外の脂肪酸をエチルエステルとして除去し、DHAモノグリセリドを製造する方法が報告されている（DHA高度精製抽出技術開発事業研究報告書（平成4-6年度）、Page 185-200、DHA高度精製抽出技術研究組合、平成7年11月）。

【0005】上記の特開平8-60181号公報に記載の方法は、2価陽イオンと水溶性高分子化合物を溶解した水溶液にDHAを含有する油脂を分散し、キャンディダ属由来のリパーゼを作用させてDHAを60%以上含有するモノ、ジ、トリグリセリドの混合物に関するものであり、モノグリセリドを主要成分として含有する油脂の製造法については触れていない。またエタノリシスによる方法は、反応物から液々抽出法と分子蒸留法を用いてモノグリセリドを取得する方法であるが、そのDHA含有率は50%程度であり、DHA以外のモノグリセリドがDHAモノグリセリドとほぼ等量含有されていることになり、いまだ満足すべき純度ではない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、DHAモノグリセリドを従来にない高い含有率で含有した油脂を効率良く製造する方法を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは上記の課題を達成せんとして鋭意検討した結果、特開平8-60181号公報に記載の方法に用いたリパーゼ反応を基本技術として調製された混合グリセリドから、分子蒸留によりモノグリセリドを分画する方法をとることによりDHAモノグリセリドを従来にない高濃度で含有する油脂の製造方法を完成するにいたった。

【0008】即ち、本発明は下記の通りである。

①2価陽イオンと水溶性高分子化合物を溶解した水溶液にドコサヘキサエン酸を含有する油脂を分散させ、これにリパーゼを作用させた後、分子蒸留により高濃度ドコサヘキサエン酸ジおよびトリグリセリドを含有する画分1、高濃度ドコサヘキサエン酸モノグリセリドを含有する画分2、遊離脂肪酸と低濃度ドコサヘキサエン酸モノグリセリドを含有する画分3に分離し、画分2を目的画分として回収した後、画分3を再度前記リパーゼ反応にリサイクルすることを特徴とするドコサヘキサエン酸モノグリセリド高含有油脂の製造方法。

②目的画分として回収する画分2のグリセリド中のモノグリセリド含有率が90%以上であり、ドコサヘキサエン酸含有率が60%以上である上記①に記載のドコサヘキサエン酸モノグリセリド高含有油脂の製造方法。

3

【0009】本発明の製造方法のブロックフローシートの例を図1に示す。以下、この図に添って本発明を詳細に説明する。

(1) 2価陽イオン、水溶性高分子化合物を水に溶解し、苛性ソーダ水溶液を用いてリパーゼ反応の至適pHに調整する。このときpH緩衝剤を添加しても良い。

(2) 上記水溶液を反応の至適温度にコントロールし、攪拌しながらDHAを含有した油脂および分子蒸留画分3を添加し、微細油滴として分散させる。

(3) リパーゼを添加し、加水分解反応を開始する。加水分解で生成する遊離脂肪酸を中和し反応の至適pHを維持するために苛性ソーダ水溶液を添加する。

(4) 反応の進行に伴い原料油脂、生成油脂、遊離脂肪酸の2価陽イオン塩および水が混在したフロックが形成され、反応液中を浮遊する。

(5) 反応終了後、フロックを公知の濾過方法により反応液から分離し、水分を含有した湿ケーキを得る。

(6) 湿ケーキに有機溶剤を添加混合し、脂肪酸2価陽イオン塩を沈殿（抽出残さ）として分離し、モノ、ジ、トリグリセリドおよび遊離脂肪酸を有機溶剤へ抽出する。

(7) 有機溶剤抽出液を冷却し、(6)で未析出の脂肪酸2価陽イオン塩および鏝分（冷却残さ）を析出分離する。2価陽イオンは、後述する高温分子蒸留でモノグリセリドをジ、およびトリグリセリドへ変化させる触媒となり、モノグリセリドの収率低下の原因となるので、本工程で極力除去しておくことが望ましい。また冷却操作を(6)で実施し、脂肪酸2価陽イオン塩と鏝分をまとめて除去しても良いが、一旦抽出残さを分離してから冷却操作を行った方が沈殿は分離しやすく、沈殿への目的成分のロスが少なくなる。

(8) 2価陽イオン塩を除去した抽出液（あるいは冷却分別液と呼称しても良い）から有機溶剤を蒸留により回収する。蒸留残液には微量の有機溶剤を含んだ水相と微量の有機溶剤を含んだ油相が存在するので、両者を重力沈降または遠心沈降により分離する。

(9) 微量の有機溶剤を含んだ油相から減圧蒸留により有機溶剤を除去し、さらに残存する極微量の有機溶剤、水、空気等を真空中で除去する脱ガス操作を行う。

(10) 脱ガス油を高温分子蒸留に供し、モノグリセリドと遊離脂肪酸を留分へ、ジおよびトリグリセリドを残分へ回収する。残分を分子蒸留画分1（画分1ともいう）と呼称する。この際、脱ガス油に存在する大部分のジグリセリドはエステル交換反応によりトリグリセリドとなる。またDHAを含有するグリセリドはDHAを含有しないグリセリドより沸点が高いために、分子蒸留画分1のDHA含有率は脱ガス油のDHA含有率より高くなる。一方、留分のDHA含有率は脱ガス油よりも低くなる。

(11) (10)の留分を低温分子蒸留に供し、沸点の

4

差を利用してDHA以外の脂肪酸からなるモノグリセリド（以下、非DHAモノグリセリドと呼称することがある）と遊離脂肪酸を留分へ、DHAモノグリセリドを残分へ回収する。残分を分子蒸留画分2（画分2ともいう）、留分を分子蒸留画分3（画分3ともいう）と呼称する。画分2および画分3をさらに繰り返し分子蒸留することにより理論上はDHA純度とDHA回収率を上げることが可能であるが、より現実的には画分3に移行するDHAモノグリセリドと非DHAモノグリセリドおよび遊離脂肪酸は再度リパーゼ反応工程にリサイクルして分離することが好ましい。

(12) 画分3は原料油脂と混合してからリパーゼ反応系に添加しても良いし、原料油脂とは別々に添加しても良い。あるいは画分3だけを単独にリパーゼ反応を行っても良い。画分3に含有される遊離脂肪酸は直接2価陽イオン塩となり、非DHAモノグリセリドはリパーゼにより加水分解されてから2価陽イオン塩となる。DHAモノグリセリドはリパーゼの作用を受けにくくそのままの形でフロックに取り込まれる。

【0010】本発明で用いられる2価陽イオンは水溶性であり、遊離脂肪酸と塩を形成し、その塩が有機溶剤に不溶性のものであれば特に限定されないが、好ましい例としてはカルシウムイオンやマグネシウムイオンを挙げることができる。実際に使用する形態としては、それらの塩化物や乳酸、酢酸、クエン酸、コハク酸等の有機酸塩を用いると良い。2価陽イオンの濃度は、原料油脂のDHA濃度、仕込濃度から予想される生成遊離脂肪酸を中和するのに必要な理論量に対して過剰量を使用すれば良い。

【0011】本発明で用いられる水溶性高分子化合物は、リパーゼの作用を阻害しないものであれば、天然由来でも合成物でも良いが、反応で生成したグリセリドを食品として使用する場合は可食性の高分子化合物を用いると良い。そのような物質の例として、可溶性澱粉、デキストリン、デキストラン、ペクチン、アラビアガム、キサンタンガム、大豆多糖体等の天然高分子糖類化合物、ゼラチン、コーン蛋白由来ペプチド等のアミノ酸高分子化合物、カルボキシメチルセルロース等のセルロース誘導体を挙げることができる。反応系に添加するこれらの水溶性高分子化合物の濃度は原料油脂の仕込濃度によっても変化するが、通常、0.5～20重量%の範囲で使用することができる。

【0012】本発明で原料として用いられるDHAを含有する油脂としては、構成脂肪酸の少なくとも一つがDHAからなるグリセリドを含有したものであればその起源は特に限定されるものではないが、通常、簡便に利用し得る油脂は、海産動物油脂、例えばイカ油、オキアミ油、カツオ油、サバ油、サンマ油、タラ肝油、マグロ油等に由来するものが例示される。また、その精製の程度についても特に限定されるものではないが、本発明によ

る製造工程およびその後続く精製工程の負荷を減少させるためにはできるだけ精製された物を使用することが好ましく、それはプロセス全体を考慮した経済的側面から決定される。例えば、本発明による方法では色素成分は大部分分子蒸留画分1に移行し、目的とする分子蒸留画分2にはほとんど移行しないので原料油の脱色は重要ではない。一方、臭気成分をモノグリセリドから分離するのは簡単ではないので、トリグリセリドとして存在する原料油の段階で分子蒸留や水蒸気蒸留を行っておいた方が好ましく、特にリパーゼ反応を窒素ガス等の不活性ガスシール下で実施したり、抗酸化剤の添加をして実施すると分子蒸留画分2の脱臭操作を省略することもできより好ましい。

【0013】原料油の仕込濃度は原料油単独、分子蒸留画分3単独、両者の混合物で使用するどの場合でも水に対して1~100重量%の範囲であり、好ましくは5~30重量%、特に好ましくは8~15重量%である。本発明で用いるリパーゼは、DHAに対してできるだけ基質特異性の低い酵素が好ましい。特に好ましくはキャンディダ属由来のリパーゼであり、市販の物を使用することもできるが、キャンディダ・リポリティカ(ATCC 34088株)を培養し、培養液から部分精製したリパーゼを用いることもできる。その調製方法の例を図2に示す。

【0014】リパーゼの使用量は原料油脂1gあたり10~1000ユニット(U)の範囲であり、好ましくは50~300ユニット(U)である。反応温度はリパーゼが失活しない範囲で適宜選ぶことができるが、例えばキャンディダ・リポリティカ由来のリパーゼの場合は0~40℃の範囲が好ましく、特に好ましくは10~30℃、さらに好ましくは15~25℃である。

【0015】反応の至適pHは例えば7~9の範囲であり、好ましくはpH7.5~8.5である。pHの変動を小さくするために、pH緩衝剤を添加しても良い。pH緩衝剤の種類としては2価陽イオンと不溶性物質を形成しない物であれば、特に限定されるものではないが、トリス塩酸塩が好ましい例として挙げられる。また、製品油脂を食品として使用する場合には食品添加物に指定されているアミノ酸類を使用することが好ましい。例えば、通常調味料として使用されるL-アスパラギン酸ナトリウム、D-L-アラニン、L-アルギニンL-グルタミン酸塩、グリシン、L-グルタミン酸、L-グルタミン酸ナトリウム、通常強化剤として使用されるL-イソロイシン、D-L-スレオニン、L-スレオニン、D-L-トリプトファン、L-トリプトファン、L-バリン、L-ヒスチジン塩酸塩、L-フェニルアラニン、D-L-メチオニン、L-メチオニン、L-リジンL-アウパラギン酸塩、L-リジン塩酸塩、L-リジンL-グルタミン酸塩の1種以上を使用しても良い。

【0016】反応の終点は、pHのコントロールに使用

する苛性ソーダ水溶液の消費量により決定することができる。例えば精製DHA20G(日本化学飼料株式会社製DHA24.1%、EPA5.9%を含む)を原料油脂として使用し、DHA濃度65%の脱ガス油を取得したいときの2N苛性ソーダ水溶液の所要消費量は1.12ml/g原料油であることが、多くの実験データから分かっている。

【0017】湿ケーキと反応濾液の分離方法は特に限定されるものではないが、重力濾過、遠心濾過、圧搾濾過、吸引濾過等の濾過法を用い、湿ケーキへの水分および水分に溶解している2価陽イオンの同伴を極力減少することが好ましい。前述の如く、2価陽イオンは高温分子蒸留でモノグリセリドをジおよびトリグリセリドへ変化させる触媒となるので、湿ケーキを水洗して付着2価陽イオンを除去することも有効な手段として用いることができる。

【0018】本発明で用いられる有機溶剤は、脂肪酸2価陽イオン塩の溶解度が小さく、グリセリドの溶解度が大きい性質の物であれば、特に限定されるものではないが、製品油脂を食品として使用する場合にはエタノール、ヘキサン、アセトンの中から選ばれる有機溶剤を使用すれば良く、特にアセトンが好ましい例として挙げられる。有機溶剤の使用量は、湿ケーキの水分によっても変化するが、通常は湿ケーキ1重量部に対して5容量部以上すれば十分目的は達成される。抽出温度は特に限定されるものでなく、例えば室温のまま成りゆきでもかまわない。抽出時の攪拌は抽出残さが完全に浮遊した状態を1時間続行すれば良い。抽出残さと抽出液の分離は重力沈降でも良いが、デカンター等の遠心沈降分離機の使用がより好ましい。抽出残さに残存しているグリセリドを回収するために抽出を2段以上に分けて実施しても良い。

【0019】本発明における冷却分離の目的を達成するための温度と時間の条件は、例えば、温度0~5℃であれば24時間、温度が-10℃程度であれば5時間、-20℃であれば2時間、-35℃以下であれば瞬間的が良い。所定の冷却温度に達するまでは攪拌を行った方が良いが、所定の冷却温度に到達してからは攪拌を続行しても停止しても良い。冷却残さの分離は特に限定されるものではないが、真空濾過、圧搾濾過を用いることが好ましい。

【0020】本発明における有機溶剤回収は、通常は単蒸留法により有機溶剤の沸点以上の温度に加熱して行われる。蒸留圧力は大気圧でも真空でも良い。本発明における脱ガスは、次の分子蒸留工程において高真空度を達成する際の阻害要因となる有機溶剤、水、空気等を除去することを目的とし、それが達成されればその方法については特に限定されるものではない。例を挙げるとすれば、0.1torrで90℃で分子蒸留装置を通せば良

【0021】本発明で用いられる分子蒸留装置としては、遠心薄膜式分子蒸留装置、回転薄膜式分子蒸留装置、流下膜式分子蒸留装置等を挙げることができる。蒸留機内の真空度は圧力表示で少なくとも0.05 torr以下、好ましくは0.01 torr以下、特に好ましくは0.001 torr以下で実施する。本発明における高温分子蒸留は、上記の真空度において、分子蒸留装置の蒸発面の温度を190～240℃、好ましくは220～235℃にコントロールし、残分（分子蒸留画分1）の遊離脂肪酸とモノグリセリドが、ほぼ0になるまで残分をリサイクルすることによって実施することができる。

【0022】本発明における低温分子蒸留は上記の真空度において、分子蒸留装置の蒸発面の温度を150～185℃、好ましくは170～180℃にコントロールし、残分（分子蒸留画分2）の遊離脂肪酸がほぼ0になるまで残分をリサイクルすることによって実施することができる。かくして得られた分子蒸留画分2は、グリセリド中のモノグリセリドの含有率は少なくとも90%

（通常は95%以上）、DHA含有率は少なくとも60%（通常は75%以上）であり、従来にない高濃度のDHAモノグリセリドを含有する油脂である。このものはそのままでも健康食品用途として使用することもできるが、さらに高いDHA純度が要求される医薬品を製造する際の原料として用いることもできる。一方、分子蒸留画分1は、グリセリド中のトリグリセリドの含有率が少なくとも90%、DHA含有率は少なくとも70%あるので、アルカリ精製、脱色等の精製を行うことにより高濃度DHAトリグリセリドとして一般食品、健康食品用途に利用することができる。

【0023】

【発明の実施の形態】以下に実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は、これによってなんら限定されるものではない。なお、油脂中のDHA濃度の定量は以下のようにして行った。125mgの試料を50mlのナス型フラスコにとり0.5Nメタノール性水酸化ナトリウム4mlを添加し、冷却器を付けて水浴上で均一な溶液になるまで加熱（5～10分）してケン化した。冷却器上部より三フッ化ホウ素錯体メタノール溶液を5ml添加し2分加熱してメチルエステル化した。次いでヘキサン4mlを添加し1分加熱後冷却し、飽和食塩水を加えてメチルエステルをヘキサン層へ抽出した。上層のヘキサン層の1.0μlをガスクロマトグラフィーに供し、面積百分率法により全脂肪酸ピーク面積に対するDHAピーク面積の比率をもってDHA濃度とした。

【0024】ガスクロマトグラフィーの条件は以下のとおりである。

【機器】島津製作所製：GC-12A、【カラムサイズ】内径3mm、長さ2m、【充填剤】液相（ジエチレ

ングリコールサクシネート10%）；担体（Chromosorb W・AW・DMCS 60・80mesh）、【キャリアーガス】窒素：流量30ml/分、

【検出器】FID、【カラム温度】200℃、【注入部温度】250℃、【検出部温度】250℃

脂質組成の定量は、TLC-FIDアナライザーを用いて以下の条件で行った。

【0025】トリグリセリド、ジグリセリド、モノグリセリド、遊離脂肪酸およびその他（TLC原点と先端付近のピーク）のピーク面積の合計に対する各成分のピーク面積の百分率をもって組成を表示した。

【機器】ヤマトロン社製：イアトロスキャンMK-5、【固定相】クロマロッド-S3、【移動相】1段目：クロロホルム/メタノール=60/5；展開時間2.5分、2段目：ベンゼン/クロロホルム/酢酸=60/10/1；展開時間28分、3段目：ベンゼン/n-ヘキサン=35/35；展開時間33分

【0026】

【実施例1】内容量250リットル、内径0.58mの円筒型のジャケット付きステンレス製反応槽（2枚羽根傾斜パドル、翼長0.352m、翼幅0.042mの攪拌翼を有す）にイオン交換水150リットルを張り込み、トリス-塩酸塩緩衝液（pH=8.2）を5mMになるように溶解した。次いで、塩化カルシウム2水塩を3.3kg、アラビアガム9.0kgを添加し攪拌して溶解し、2N NaOHにてpHを8.2になるよう調整した。さらにジャケットには17℃にコントロールした冷却水を循環し、液温を17℃に調整した。

【0027】この液に脱臭済み、未脱色の魚油DHA35G（日本化学飼料株式会社提供、DHA35.7%、EPA8.2%含有）を12kg添加して240rpmで攪拌し、魚油を分散させた。次いで、図2の方法によって調整したリパーゼ粉末（4000U/g）150gを少量の水に分散させて添加し、反応を開始した。反応中pHは2N NaOHにより8.2にコントロールし、温度は17℃にコントロールして、攪拌速度240rpmで10hr反応を実施した。このときの2N NaOH使用量は10.2リットルであった。反応液を舟形濾過機で反応濾液と湿ケーキに分離し、33.2kgの湿ケーキを得た。

【0028】あらかじめ166リットルのアセトン張り込んだ内容量400リットルの攪拌槽に上記湿ケーキを投入し、1時間攪拌を行った。攪拌を停止してから、1時間静置し、上清110リットルをポンプで抜き取って別の容器に回収した。沈降残ささらに100リットルのアセトンを添加し、再度1時間攪拌を行った後、真空濾過により固液分離を行い、抽出残さ31.2kg、抽出濾液155リットルを得た。1回目と2回目のアセトン抽出液を合わせ、内容量400リットルのジャケット付き攪拌槽に入れ、ジャケットに-10℃のブライン

を循環して抽出液を -10°C に冷却し、 -10°C に達してからその温度を維持して5時間攪拌を続行した。冷却液はポンプで密閉型のフィルターに圧送し、沈澱物を除去した。沈澱物の発生量は 1.4kg であった。濾液を再度、内容量 400リットル のジャケット付き攪拌槽に入れ、ジャケットに 60°C の温水を循環して常圧でアセトンを蒸発し、コンデンサーで凝縮させてアセトンを回収した。約 10リットル の蒸留残液が得られ、これから水相を重力沈降で分離した。油相をロータリーエバポレーターにて 70°C で真空蒸発させ、水分とアセトンを除

【0029】これを遠心薄膜式分子蒸留装置CEH-300B（日本真空技術株式会社製）に真空度 0.1torr 、蒸留温度 90°C の条件で3サイクル通すことにより、脱ガスを行った。得られた脱ガス油の重量は 5.83kg 、DHA純度は 64.8% 、モノグリセリド含有率は 66.0% であった。脱ガス油製造までの条件と結果を表1に示した。

【0030】次いで、脱ガス油を上記の遠心薄膜式分子蒸留装置に真空度 0.007torr 、蒸留温度 230°C 、供給速度 10kg/hr の条件で10サイクル通すことにより、 4.18kg の留分と 1.65kg の残分を得た。その組成を表2に示した。これよりモノグリセリドと遊離脂肪酸の全てが留分の方へ移行したことが分かる。

【0031】次に、上記留分を同じ遠心薄膜式分子蒸留装置に真空度 0.007torr 、蒸留温度 180°C 、供給速度 10kg/hr の条件で6サイクル通すことにより、 2.10kg の留分と 2.07kg の残分を得た。その組成を表3に示した。これより遊離脂肪酸の全てが留分に移行し、残分のDHA純度は 77.1% 、モノグリセリド含有率は 96.1% に達していることが分かる。

【0032】

【実施例2】実施例1の低温分子蒸留で得た留分（分子蒸留画分3） 2.10kg と、実施例1で使用した物と同一の未脱色DHA35G9.90kgを混合して酵素反応原料油とした。これを用いて実施例1と同様の方法で酵素反応、アセトン抽出、冷却分離、アセトン回収、脱ガスを実施し、DHA純度 67.0% の脱ガス油 5.26kg を得た。酵素反応から脱ガス油製造までの原料仕込量と主たる結果を表1に示した。

【0033】次いで、脱ガス油を実施例1と同様の条件で高温分子蒸留に供し、留分 3.90kg とDHA純度 74.0% の残分（画分1） 1.36kg を得た。留分と残分の組成を表2に示した。さらに上記留分を実施例1と同様の条件で低温分子蒸留に供し、留分（画分3） 1.75kg と残分（画分2） 2.15kg を得た。留分と画分の組成を表3に示した。これによれば画分2のDHA純度は 76.5% 、モノグリセリド含有率は 9

7.3% であった。

【0034】

【実施例3】実施例2の低温分子蒸留で得た留分（分子蒸留画分3） 1.75kg と、実施例1で使用した物と同一の未脱色DHA35G10.25kgを混合して酵素反応原料油とした。これを用いて実施例1と同様の方法で酵素反応、アセトン抽出、冷却分離、アセトン回収、脱ガスを実施し、DHA純度 66.5% の脱ガス油 5.38kg を得た。酵素反応から脱ガス油製造までの原料仕込量と主たる結果を表1に示した。

【0035】次いで、脱ガス油を実施例1と同様の条件で高温分子蒸留に供し、留分 4.09kg とDHA純度 73.4% の残分（画分1） 1.29kg を得た。留分と残分の組成を表2に示した。さらに上記留分を実施例1と同様の条件で低温分子蒸留に供し、留分（画分3） 1.90kg と残分（画分2） 2.16kg を得た。留分と画分の組成を表3に示した。これによれば画分2のDHA純度は 77.8% 、モノグリセリド含有率は 96.0% であった。

【0036】

【実施例4】実施例3の低温分子蒸留で得た留分（分子蒸留画分3） 1.90kg と、実施例1で使用した物と同一の未脱色DHA35G10.10kgを混合して酵素反応原料油とした。これを用いて実施例1と同様の方法で酵素反応、アセトン抽出、冷却分離、アセトン回収、脱ガスを実施し、DHA純度 67.0% の脱ガス油 5.43kg を得た。酵素反応から脱ガス油製造までの原料仕込量と主たる結果を表1に示した。

【0037】次いで、脱ガス油を実施例1と同様の条件で高温分子蒸留に供し、留分 4.04kg とDHA純度 74.5% の残分（画分1） 1.39kg を得た。留分と残分の組成を表2に示した。さらに上記留分を実施例1と同様の条件で低温分子蒸留に供し、留分（画分3） 1.74kg と残分（画分2） 2.30kg を得た。留分と画分の組成を表3に示した。これによれば画分2のDHA純度は 77.2% 、モノグリセリド含有率は 97.0% であった。

【0038】（DHA収率の比較）実施例1から4の脱臭済み、未脱色DHA35Gに対する製品のDHA収率を表4に比較して示した。尚、本発明で用いた分析方法によるDHA純度は油脂に含有されるグリセリドを 100% としたときのDHA含有率に等しいと仮定して収率計算を実施した。

【0039】これによれば、画分3を酵素反応に回収していない実施例1の画分2のDHA収率は 37.12% であるのに対し、画分3を酵素反応に回収した実施例2、3、4のDHA収率はそれぞれ 46.70% 、 45.30% 、 49.16% であり平均すれば約 10% DHA収率が向上したことが分かる。また画分1と画分2を加えたDHA収率は、実施例2、3、4でそれぞれ7

4.49%、70.44%、77.25%であり、平均すれば74%の高収率であった。

【0040】

【実施例5】実施例1から4の低温分子蒸留における各サイクルごとの残分のDHA純度と、モノグリセリドおよび遊離脂肪酸の含有率を表5に示した。これによ

酵素反応原料仕入量と結果

		実施例1	実施例2	実施例3	実施例4
原料油 (kg)	未脱色35G	12.00	9.90	10.25	10.10
	分子蒸留画分3 (合計)	0 (12.00)	2.10 (12.00)	1.75 (12.00)	1.90 (12.00)
イオン交換水 (L)		150	150	150	150
塩化カルシウム2水塩 (kg)		3.3	3.3	3.3	3.3
アラビアガム (kg)		9.0	9.0	9.0	9.0
リパーゼ4000u/g (g)		150	150	150	150
2N NaOH (L)		10.2	10.2	10.2	10.2
酵素反応時間(Hr)		10	12	10	11
湿ケーキ重量(kg)		33.2	35.1	33.2	31.4
脱ガス油	重量(kg)	5.83	5.26	5.38	5.43
	DHA純度(%)	64.8	67.0	66.5	67.0
	脂質組成(%)				
	トリグリセリド	4.6	3.5	4.0	3.8
	ジグリセリド	19.9	18.6	19.2	17.0
組成(%)	モノグリセリド	66.0	69.3	66.4	70.0
	遊離脂肪酸	7.4	6.8	8.2	7.2
	その他	2.1	1.8	2.2	2.0

【0042】

【表2】

ば、分子蒸留サイクル数の増加に伴いDHA純度とモノグリセリド含有率が増加し、遊離脂肪酸は減少することが分かる。どの実施例においても6サイクル目においては遊離脂肪酸は0%であった。

【0041】

【表1】

高温分子蒸留における留分と残分の量および組成

			実施例1	実施例2	実施例3	実施例4
留分	重量(kg)		4.18	3.90	4.09	4.04
	DHA純度(%)		61.3	64.3	64.2	64.2
	脂質組成(%)	トリグリセリド	0	0	0	0
		ジグリセリド	1.2	1.0	1.0	1.0
		モノグリセリド	87.1	88.7	86.5	87.8
		遊離脂肪酸	10.3	9.2	10.8	9.6
		その他	1.4	1.1	1.7	1.6
残分	重量(kg)		1.65	1.36	1.29	1.39
	DHA純度(%)		72.8	74.0	73.4	74.5
	脂質組成(%)	トリグリセリド	86.7	89.7	87.6	93.5
		ジグリセリド	9.7	6.6	8.5	2.9
		モノグリセリド	0	0	0	0
		遊離脂肪酸	0	0	0	0
		その他	3.6	3.7	3.9	3.6

【0043】

【表3】

低温分子蒸留における留分と残分の量および組成

			実施例1	実施例2	実施例3	実施例4
留分	重量(kg)		2.10	1.75	1.90	1.74
	DHA純度(%)		41.6	45.5	44.3	41.8
	脂質組成(%)	トリグリセリド	0	0	0	0
		ジグリセリド	0	0	0	0
		モノグリセリド	78.1	78.2	75.7	76.0
		遊離脂肪酸	20.5	20.4	23.0	22.6
		その他	1.4	1.4	1.3	1.7
残分	重量(kg)		2.07	2.15	2.16	2.30
	DHA純度(%)		77.1	76.5	77.8	77.2
	脂質組成(%)	トリグリセリド	0	0	0	0
		ジグリセリド	2.4	1.9	1.8	1.7
		モノグリセリド	96.1	97.3	96.0	97.0
		遊離脂肪酸	0	0	0	0
		その他	1.5	0.8	2.2	1.3

【0044】

【表4】

		実施例1	実施例2	実施例3	実施例4
脱臭済 未脱色 35G	油重量(kg)	12.00	9.90	10.25	10.10
	グリセリド含有率(%)	98.85	98.85	98.85	98.85
	DHA/グリセリド(%)	35.70	35.70	35.70	35.70
	DHA/油(%)	35.29	35.29	35.29	35.29
	DHA重量(kg)	4.23	3.49	3.62	3.56
	DHA相対重量(%)	100.00	100.00	100.00	100.00
分子 蒸留 画分1 トリグリセリド油	油重量(kg)	1.65	1.36	1.29	1.39
	グリセリド含有率(%)	96.4	96.3	96.1	96.4
	DHA/グリセリド(%)	72.8	74.0	73.4	74.5
	DHA/油(%)	70.18	71.26	70.53	71.82
	DHA重量(kg)	1.16	0.97	0.91	1.00
	DHA収率(%)	27.42	27.79	25.14	28.09
分子 蒸留 画分2 モノグリセリド油	油重量(kg)	2.07	2.15	2.16	2.30
	グリセリド含有率(%)	98.5	99.2	97.8	98.7
	DHA/グリセリド(%)	77.1	76.5	77.8	77.2
	DHA/油(%)	75.9	75.9	76.1	76.2
	DHA重量(kg)	1.57	1.63	1.64	1.75
	DHA収率(%)	37.12	46.70	45.30	49.16
合計 DHA収率(%)		64.54	74.49	70.44	77.25

ガスクロマトグラフィーによるDHA純度がDHA/グリセリド純度に等しいと仮定して収率計算を行った。

【0045】

【表5】

低温分子蒸留サイクルごとの残分のDHA純度と
モノグリセリドおよび遊離脂肪酸含有率(単位%)

実施例	分析項目	高温分子 蒸留留分	低温分子蒸留残分 (サイクル数)					
			1	2	3	4	5	6
1	DHA純度	61.3	63.5	67.0	70.0	72.5	75.4	77.1
	モノグリセリド	87.1	92.3	95.1	95.7	95.9	96.0	96.1
	遊離脂肪酸	10.3	5.1	2.3	1.5	0.8	0.3	0
2	DHA純度	64.3	65.5	68.0	71.0	73.0	75.5	76.5
	モノグリセリド	88.7	93.0	95.5	96.5	97.0	97.2	97.3
	遊離脂肪酸	9.2	4.8	2.2	1.4	0.7	0.1	0
3	DHA純度	64.2	64.8	69.3	70.3	72.7	76.0	77.8
	モノグリセリド	86.5	91.6	95.0	95.4	95.8	96.0	96.0
	遊離脂肪酸	10.8	5.6	2.3	1.6	0.4	0.2	0
4	DHA純度	64.2	65.3	68.8	71.5	73.4	76.2	77.2
	モノグリセリド	87.8	91.8	95.0	96.1	96.8	97.0	97.0
	遊離脂肪酸	9.6	5.2	2.1	1.3	0.2	0	0

【0046】

【発明の効果】本発明の製造法によれば、過剰摂取が問題となっている脂肪酸が減少し、有用な生理活性を有し

かつ高い消化吸収性が期待されるDHAモノグリセリドを、従来にない高濃度で含有した油脂を高収率で製造することができる。本発明の製造法によるDHAモノグリ

セリドを高濃度に含有した油脂は、健康食品、栄養強化食品としてまた医薬品原料として有用である。

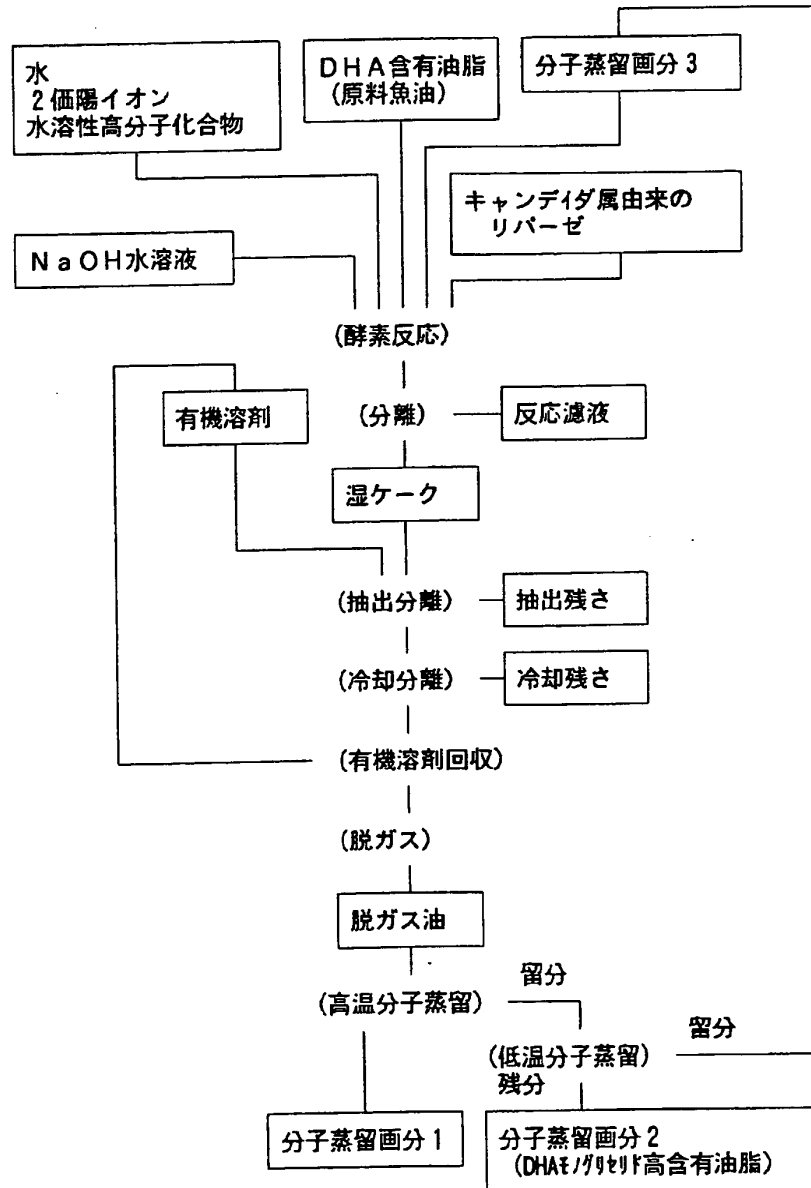
【図面の簡単な説明】

【図1】本発明による製造法の一例のブロックフローシ

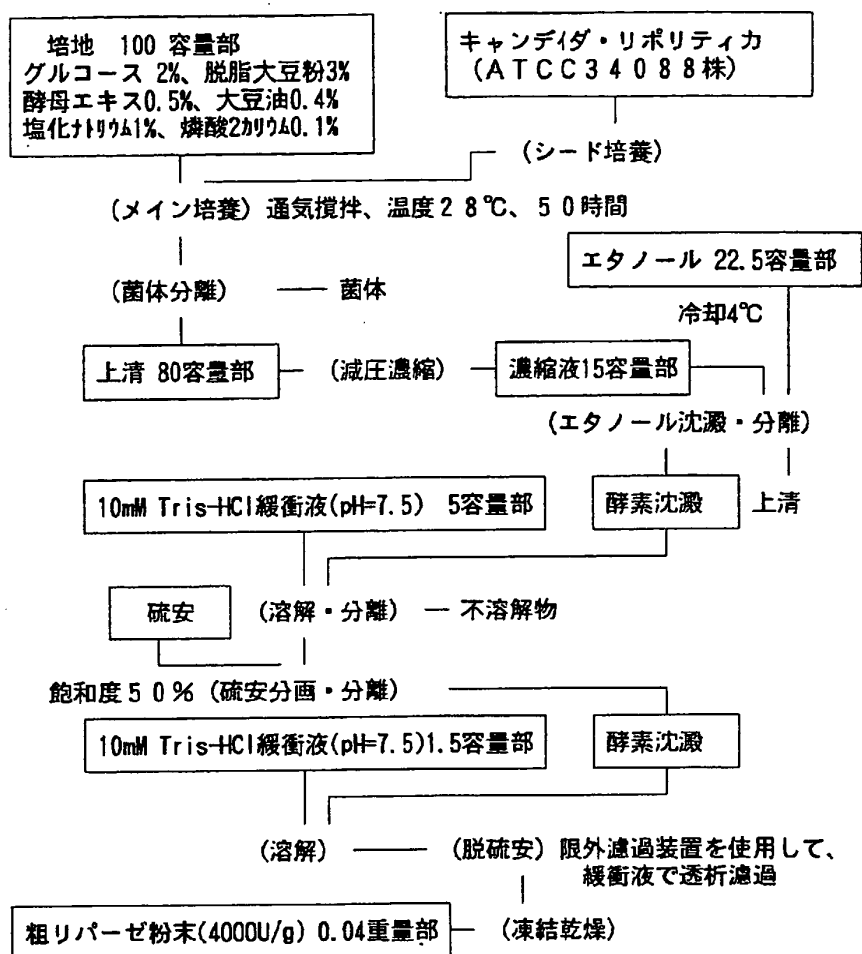
ートである。

【図2】本発明で使用するリパーゼの調製方法の例示である。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

識別記号

序内整理番号

F I

技術表示箇所

C 1 2 R 1:73)